**Клонирование человеческого эмбриона**

В октябре 2001 года мы пришли в лабораторию компании Advanced Cell Technology для того, чтобы увидеть через микроскоп маленькие шарики делящихся клеток, невидимые невооруженным взглядом. Не смотря на свою внешнюю незначительность, эти крупинки были драгоценны, потому что представляли собой первый человеческий эмбрион, полученный техникой ядерной трансплантации, известной также как клонирование.

Мы надеялись получить ранний эмбрион, развившийся до состояния полой сферы, состоящей из примерно ста клеток, так называемого бластоцита. Мы намеревались выделить из бластоцита стволовые клетки, которые могли бы служить в качестве исходного материала для выращивания нервных, мускульных и других тканей, которые могут быть использованы для лечения многих болезней. К сожалению, только один из эмбрионов развился до шести клеток, после чего деление остановилось. В аналогичном эксперименте, однако, нам удалось заставить человеческую яйцеклетку, саму по себе, неоплодотворенную сперматозоидом, партногенетически развиться до бластомера (партогенез – развитие неоплодотворенной яйцеклетки). Мы верим, что эти достижения представляют начало новой эры в медицине, демонстрирую принципиальную возможность терапевтического клонирования.

Терапевтическое клонирование, одной из задач которого является использование генетического материала из собственных клеток пациента для, например, выработки тканей поджелудочной железы у диабетиков или нервных клеток для лечения повреждений спинного мозга, отличается от репродуктивного клонирования, целью которого является имплантация клонированного эмбриона в матку с последующим рождением клонированного ребенка. Мы полагаем, что репродуктивное клонирование несет потенциальную опасность, как для ребенка, так и для матери, поэтому поддерживаем ограничение на репродуктивное клонирование до тех пор, пока не будут решены вопросы безопасности, а также этические вопросы.

Сторонники репродуктивного клонирования пытаются кооптировать термин «терапевтическое клонирование», заявляя, что применение клонирования поможет иметь детей тем парам, которые не могут сделать это естественным путем. Мы против такого использования, так как называя эту процедуру «терапевтической», они лишь вносят путаницу.

**Что мы сделали?**

Мы предприняли попытку создать человеческий клон в начале 2001 года. Мы начали с консультаций с нашим совещательным советом по этике, с юристами, со специалистами по репродукции. Под руководством Рональда Грина, директора Института Этики в Дартмусе, совет вывел пять ключевых положений (см. The Ethical Considerations).

Затем мы наняли женщин, которые согласились на использование в процедуре клонирования своих яйцеклеток и также собрали клетки других людей (доноров), которые и должны быть клонированы. Процесс клонирования выглядит несложным, но успех зависит от множества факторов, влияние которых зачастую еще не понято. В базовой технике переноса ядра ученые используют очень тонкую иглу, с помощью которой они «высасывают» генетический материал из зрелой клетки. Затем они вводят ядро клетки-донора (или иногда целую клетку) в клетку с удаленным ядром и выращивают это в специальных условиях, способствующих делению и росту ( TherapeuticCloning: HowIt'sDone).

Мы нашли женщин, желающих на условии анонимности разрешить использовать свои яйцеклетки в нашем исследовании, поместив объявление в Бостонских газетах. Мы принимали женщин в возрасте от 24 до 32 лет, которые уже имели по крайней мере одного ребенка. Все эти женщины были подвергнуты психологическому и физиологическому тестированию, включая проверку на инфекционные болезни. Это было необходимо для того, чтобы убедиться в том, что они здоровы и что участие в эксперименте не скажется на них неблаготворно. В конце концов из всех кандидатов мы отобрали двенадцать. Тем временем, мы взяли биопсию кожи у нескольких других анонимных участников эксперимента для выделения клеток, называемых фибробластами.

Наша группа доноров фибробластов включала людей в целом здоровых или с такими заболеваниями как диабет или повреждения спинного мозга – именно этим людям терапевтическое клонирование должно помочь в первую очередь.

Первая попытка клонирования была произведена в июле. Определение времени каждой попытки зависело от менструальных циклов женщин – источников яйцеклеток; донорам несколько дней делали уколы гормонов, так что при овуляции выделялось около 10 яйцеклеток вместо обычных одной или двух.

Слабый проблеск успеха появился в третьем цикле попыток, когда ядра введенного фибропаста как бы начали делиться, но до двух отдельных яйцеклеток процесс не доходил. Поэтому в следующем цикле мы выбрали тактику, используемую Терухико Уакайама и его коллегам, учеными, создавшими в 1998 году первую клонированную мышь. (Уакайама тогда работал в Гавайском университете, а теперь – в AdvancedCellTechnology). Хотя в некоторые яйцеклетки мы вводили ядра из кожных фибропластов как обычно, в другие яйцеклетки были введены клетки яичников, названные «cumulus», функция которых заключается в питании развивающихся яйцеклеток. Клетки «cumulus» настолько малы, что их можно ввести целиком. В конце концов для получения одного клонированного эмбриона были использованы 71 яйцеклетка, взятые от семи человек. Из семи яйцеклеток в которые мы ввели клетки «cumulus», две развились до эмбриона из четырех клеток, одна – до шести клеток, после чего их рост прекратился.

**Партеногенез.**

В ходе нашего исследования мы также хотели выяснить, возможно ли вызвать деление яйцеклетки, без оплодотворения сперматозоидом или введения клетки-донора. Хотя зрелые яйцеклетки и сперматозоиды имеют лишь половину генетического набора обычной клетки, яйцеклетки делят пополам свой генетический материал на поздней стадии созревания. При активировании до этого момента у них сохраняется полный набор генов.

Стволовые клетки, извлеченные из таких партеногенетически активированных клеток предположительно не будут отторгаться при трансплантации, потому что они весьма схожи с собственными клетками пациента и не будут вызывать реакции отторжения у иммунной системы (они не будут полностью идентичны клеткам пациента из-за «перетасовки» генов, которая всегда сопровождает образование половых клеток). Применение таких клеток вызовет меньше вопросов морального толка, чем использование стволовых клеток извлеченных из ранних эмбрионов.

По одному из сценариев, женщины с заболеваниями сердца могут «сдавать» свои яйцеклетки в лабораторию, где из этих клеток будут выделены бластоциты. Ученые, используя комбинацию некоторых факторов роста, могут направить развитие изолированных из бластоцитов стволовых клеток таким образом, что из них вырастет ткань сердечной мышцы, которая имплантируется обратно женщине в качестве «заплатки» для пораженного участка сердца. Для мужчин аналогичная процедура, называемая андрогенезом, является более сложной. Но она должна включать перенос двух ядер из сперматозоидов в лишенную ядра яйцеклетку.

Ранее исследователям удавалось, используя воздействие различными химикатами или электротоком, стимулировать деление яйцеклеток мышей и кроликов. В 1983 году ElizabethJ. Robertson, работающий сейчас в Гарвардском Университете, демонстрировал что стволовые клетки из партеногенетических эмбрионов мыши могут образовывать различные ткани, в том числе нервные и мышечные.

В нашем эксперименте по партеногенезу мы подвергли двадцать две яйцеклетки воздействию химикатов, меняющих концентрацию ионов внутри клетки. После пяти выращивания шесть клеток образовали нечто, похожее на бластоциты, но в них не было так называемых внутренних клеток, которые образуют стволовые клетки.

**Почему мы сделали это.**

Наша цель – использовать терапевтическое клонирование или клеточную терапию на основе партеногенеза для помощи больным людям. В настоящее время наши усилия направлены на болезни нервной и сердечно-сосудистой системы, аутоиммунные расстройства, диабет и заболевания крови и костного мозга.

Мы надеемся, что когда нам удастся вырастить из клонированных эмбрионов нервные клетки, возможно будет лечить не только повреждения спинного мозга, но и расстройства головного мозга, такие как болезни Паркинсона, Альцгеймера, инсульт и эпилепсия.

Кроме этого, стволовые клетки можно превратить в клетки поджелудочной железы для лечения диабета, клетки сердечной мышцы для терапии инфарктов.

Еще более интересно было бы направить развитие столовых таким образом, чтобы они дифференцировались в клетки крови и костного мозга. Аутоиммунные расстройства, такие как рассеянный склероз и ревматический артрит, возникают когда белые кровяные клетки, образуемые в костном мозге, атакуют собственные клетки тела. Предварительные исследования показали, что состояние людей, больных одновременно раком и аутоиммунными расстройствами, заметно улучшается после замены их убитого химиотерапией костного мозга на трансплантаты. Вливание кроветворных клонированных стволовых клеток может «перезагрузить» иммунную систему людей с аутоиммунными расстройствами.

Но можно ли считать клетки полученные клонированием или партеногенезом нормальными? Безопасность их использованию могут показать лишь клинические испытания, но наши опыты с клонированными животными показали, что клоны здоровы. В выпуске журнала Scienceот 30 ноября 2001 годы мы рассказали о наших успешных экспериментах по клонированию крупного рогатого скота. Из 30 клонированных животных шесть умерло вскоре после рождения, но оставшаяся часть были вполне нормальны по физическим показателям, и тесты их иммунной системы не показали отличий от обычных животных. От двух коров даже родились здоровые телята.

Кроме того, похоже, что процесс клонирования «сбрасывает показания» «часов возраста» в клонированных клетках, - то есть клонированные клетки появляются более молодыми, чем те, из которых они были клонированы. В 2000 году мы сообщали, что теломеры, - конечные участки хромосом, от клонированных телят, такой же длины, что и у телят из контрольной группы. Теломеры обычно укорачиваются или разрушаются по мере старения организма при каждом новом делении клетки. Терапевтическое клонирование может снабжать стареющую популяцию молодыми клетками.

Доклад, сделанный в июле этого года Рудольфом Джаничем из WhiteheadInstituteforBiomedicalResearch в Кембридже, штат Массачусетс, привлек большое внимание, потому что они обнаружили так называемые импринтинг- дефекты у клонированных мышей. Импринтинг это что то вроде печати, которая стоит на многих генах у млекопитающих и определяет, нужно ли этим генам включаться или выключаться в зависимости от того, унаследованы ли они от матери или отца. Программа импринтинга обычно «обнуляется» при развитии эмбриона.

Хотя импринтинг наверное играет важную роль у мышей, никто пока не может определить значение этого явления у человека. Кроме того, Джанич и коллеги не проводили исследования мышей, клонированных из клеток взрослых животных, в частности из фибропластов или клеток «cumulus». Вместо этого они изучали мышей, клонированных из более изменчивых эмбриональных клеток. Результаты исследований, показывающих, что импринтинг протекает нормально у мышей, клонированных из клеток взрослых особей, должны быть опубликованы в научной литературе в течение нескольких месяцев.

Тем временем мы продолжаем наши эксперименты по терапевтическому клонированию. Ученые только начали разрабатывать эту многообещающую тему.

**Список литературы**

Кальманович Дмитрий. Клонирование человеческого эмбриона.